Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 5, Dec- Jan 2022, p. 725-738

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۵، آذر- دی ۱٤۰۱ ص.۷۳۸-۷۲۵

Homepage: http://ifstrj.um.ac.ir

Full Research Paper

Enzymatic extraction of sulfated polysaccharide from the skin of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and evaluation of its chemical, antioxidant and functional properties

Shahab Naghdi[1], Masoud Rezaei*[2], Mehdi Abdollahi[3], Mehdi Tabarsa[4]

Received: 2021.10.21
Revised: 2022.02.06
Accepted: 2022.02.16
Available Online: 2022.02.16

How to cite this article:
Naghdi, Sh., Rezaei, M., Abdollahi, M., Tabarsa, M. (2022). Enzymatic extraction of sulfated polysaccharide from the skin of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and evaluation of its chemical, antioxidant and functional properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 18 (5), 725-738.

Abstract

Introduction: Bioactive compounds are substances found in small amounts in food. In addition to their influence on human development, these compounds also play a crucial role in reducing diseases in human. Polysaccharides are a group of bioactive compounds that come from a variety of sources. Polysaccharides are macromolecules that are usually composed of more than ten monosaccharides. The constituent monosaccharides are arranged linearly or branched together through glycoside bonds, depending on the length of the chain and the number of constituent monosaccharides. They also have different molecular weight. Polysaccharides, like other essential macromolecules such as proteins and poly-nucleotides in the body, are essential for the flaxseed body's daily activities and play an influential role in cell-cell communication, cell adhesion, and the identification of molecules in the immune system. A group of polysaccharides derived from marine sources are sulfated polysaccharides. These polysaccharides are a broad branch of the resulting polysaccharides. In industrial quantities, sulfated polysaccharides are produced from pig skin and pig bone, and there are some restrictions on the use of these products in some countries. The limitations on the use of these products made from pig waste are the risks of transmitting influenza, as well as the prohibition of pork in some Islāmic countries. In this regard, by-products from seafood processing, which account for about 20 to 50 percent of the initial weight of raw material, are one of the sources that researchers are considering to extract these compounds.

Material and Method: After preparation of the by-product, it was covered with ice in a ratio of 1 to 3 and transferred to the laboratory of Tarbiat Modares University. The sample was then washed and then ground. Finally, it was packed in plastic bags and kept in the freezer at -18 ° C until the day of experiment. Then, the enzymatic hydrolysis method and precipitation by ethanol were used to get sulfated polysaccharides. Chemical analyses were performed to determine carbohydrates, sulfates, proteins, and uronic acid content. The FTIR spectrum of extracted sulfate polysaccharide was determined using an FTIR spectrophotometer in the range of 400-4000 cm^{-1}. Evaluation of antioxidant properties of obtained sulfate polysaccharide was assessed by DPPH free radical scavenging activity, ABTS

1. PhD Student, Department of Fishery Processing, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
2. Professor, Department of Fishery Processing, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
3. Researchers, Department of Biology and Biological Engineering, Food Science and Nutrition, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden.
4. Associate Professor, Department of Fishery Products Processing, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
(*Corresponding Author Email: rezai_ma@modares.ac.ir)
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2022.72999.1102

free radical scavenging activity, and ferrozine tests. Emulsifying and foaming properties were also evaluated as functional properties.

Results and Discussion: In the present study, sulfated polysaccharide was extracted from Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin by pepsin enzyme and its FTIR spectrum, carbohydrate, sulfate, uronic acid and protein were analyzed. The results of the chemical analysis of the extracted polysaccharide showed that the extraction efficiency was 3.23± 0.02%, as well as the percentage of carbohydrate and protein of the obtained polysaccharide was 57.03± 2 2.56, 7.78± 0.43% respectively. Also, the amount of sulfate and uronic acid were 6.54± 0.77 and 3.86± 0.43, respectively. The results of infrared spectroscopy showed the presence of a broad peak in the range between 3350 and 3450 cm^{-1} for the –OH group and the S=O sulfate flexural band in the range of 1245 cm^{-1}. An increasing and significant trend was observed in different concentrations used for the DPPH test ($p < 0.05$) which had the highest neutralizing power (38.85%) at a concentration of 2 mg/ml. The highest percentage of ABTS radical chelating was observed at a concentration of 4 mg/mm of distilled water with 71.70% ($p < 0.05$). The chelating results of the extracted polysaccharide against ferrous ions showed that the highest chelating percentage was 98.43% ($p < 0.05$). The foaming capacity, stability properties of the foam, and the emulsifying ability of the studied sample showed a trend of increasing the concentration coefficient of the sample ($p < 0.05$), and the concentration of 10% used sulfated polysaccharide had the highest foaming percentage (72/22%) and foam stability (62.22%) ($p < 0.05$). The emulsifying property of extracted sulfate polysaccharide against soybean oil was higher in all concentrations used than sunflower oil ($p < 0.05$), and the highest value of that was related to the concentration of 10% with 86.57% and 92.59% against sunflower oil and soybean oil ($p < 0.05$). The obtained results demonstrated that the fish skin extracted polysaccharide can serve as a natural antioxidant and functional agent in the food industry.

Keywords: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Sulfated polysaccharide, Antioxidant properties, Foaming properties, Emulsifying properties.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 5, Dec- Jan 2022, p. 725-738

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۵، آذر- دی ۱٤۰۱ ص.۷۳۸-۷۲۵

مقاله علمی-پژوهشی

استخراج آنزیمی پلی‌ساکارید سولفاته از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و بررسی شیمیایی، خواص ضداکسیدانی و کارکردی آن

شهاب نقدی[۱]- مسعود رضائی*[۲]- مهدی عبدالهی[۳]- مهدی طبرسا[٤]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷

چکیده

در مطالعه حاضر پلی‌ساکارید سولفاته از پوست ماهی قزل‌آلا توسط آنزیم پپسین استخراج شد و آنالیزهای FTIR، کربوهیدرات، سولفات، یورونیک اسید و پروتئین آن انجام شد. نتایج آنالیز شیمیایی پلی‌ساکاریدهای استخراج شده نشان داد که بازده استخراج ۰/۰۲ ±۳/۲۳٪ بود، همچنین درصد کربوهیدارت و پروتئین نمونه به‌دست آمده ۲/۵۶ ±۵۷/۰۳، ۰/۴۳ ±۷/۷۸ بود. همچنین مقدار سولفات و یورونیک اسید به‌ترتیب ۰/۷۷ ±۶/۵۴ و ۰/۴۳ ±۳/۸۶ بود. نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز نشان داد یک پیک پهن در ناحیه ۳۳۵۰ تا ۳۴۵۰ cm^{-1} مربوط به گروه OH– و باند خمشی سولفات S=O در ناحیه ۱۲۴۵ cm^{-1} ظهور پیدا کرد. یک روند افزایشی و معنی‌دار در غلظت‌های مختلف مورد استفاده برای تست DPPH مشاهده شد ($p<0.05$) که بالاترین قدرت خنثی‌کنندگی (۳۸/۸۵٪) در غلظت ۲ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر مشاهده شد. بالاترین درصد شلاته‌کنندگی رادیکال ABTS در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آب مقطر با درصد (۷۱/۷۰٪) مشاهده شد ($p<0.05$). نتایج شلاته‌کنندگی یون‌های فروزین پلی‌ساکارید استخراج شده نشان داد که بالاترین درصد شلاته‌کنندگی ۹۸/۴۳٪ بود ($p<0.05$). ظرفیت کف کنندگی، خواص پایداری کف و ظرفیت امولیسیون‌کنندگی نمونه مورد مطالعه حاکی از یک روند افزایشی با افزایش غلظت نمونه بود ($p<0.05$) و غلظت ۱۰٪ پلی‌ساکارید سولفاته استفاده شده بالاترین درصد کف‌کنندگی (۷۲/۲۲٪) و پایداری کف (۶۲/۲۲٪) را از خود نشان داده است ($p<0.05$). خاصیت امولیسیون کنندگی پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده در برابر روغن سویا در تمامی غلظت‌های استفاده شده بیشتر از روغن آفتابگردان بود ($p<0.05$) و بالاترین مقدار این خاصیت مربوط به غلظت ۱۰٪ با عدد ۸۶/۵۷٪ و ۹۲/۵۹٪ به‌ترتیب در برابر روغن آفتابگردان و روغن سویا بود ($p<0.05$).

واژه‌های کلیدی: ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، پلی‌ساکارید سولفاته، ضداکسیدانی، کف‌کنندگی، امولیسیون‌کنندگی.

مقدمه

ترکیبات زیست فعال عناصر مغذی هستند که در مقادیر کم در غذا یافت می‌شوند. این ترکیبات علاوه‌بر تاثیری که در رشد و نمو انسان دارند نقش بسیار مهمی نیز در کاهش خطر بیماری‌ها نقش مهمی در سلامت و ایمنی جامعه ایفا می‌کنند. مصرف ترکیبات زیست فعال موجود در میوه‌جات و سبزی‌ها به مبارزه با بیماری‌های قلبی، سرطان، چاقی، دیابت و اختلال در دستگاه گوارش کمک می‌کند (Shahidi, 2012 ;Xu et al., 2017a). به‌تازگی مطالعات زیادی بر روی انواع مواد غذایی و فرآورده‌های طبیعی دیگر و بررسی این احتمال که آن‌ها منبع عوامل درمانی و پیشگیری‌کننده هستند، انجام شده است. در این رابطه گروهی از مواد غذایی که اگر به‌طور منظم و مناسب مصرف شوند علاوه بر خواص طبیعی خود، اثرات سلامت بخش نیز دارند فراسودمند نامیده می‌شوند (Odeleye et al., 2019). از اجزای زیست فعالی که امروزه مورد توجه هستند می‌توان به پلی ساکاریدهای سولفاته، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، پروتئین‌های هیدرولیز شده، اسیدهای چرب امگا ۳ و ۶ استخراج شده از منابع متنوع گیاهی و حیوانی اشاره کرد (Joana et al., 2013; Odeleye et al., 2019). برخی از منابع غذایی همانند ماهی و سایر آبزیان به‌خودی خود حاوی این ترکیبات ارزشمند بوده و تاثیرات سلامتی بخش آن‌ها بر

۱- دانشجوی دکتری، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
۲- استاد، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
۳- محقق، گروه زیست‌شناسی و مهندسی بیولوژیکی، علوم غذایی و تغذیه، دانشگاه صنعتی چالمرز، گوتنبرگ، سوئد.
۴- دانشیار، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
* - نویسنده مسئول: Email: rezai_ma@modares.ac.ir
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2022.72999.1102

کسی پوشیده نیست. این مواد غذایی از گذشته مورد توجه مصرف کنندگان بوده‌اند اما در طی چند دهه اخیر به دلیل تحقیقاتی که برروی بررسی اثرات مفید این مواد غذایی در سلامت بدن انجام شده است بیش از پیش مورد توجه محققان، مصرف‌کنندگان و نهایتا صنعت قرار گرفته‌اند (Shahidi, 2012 ;Ye et al., 2018).

پلی‌ساکاریدها گروهی از ترکیبات زیست‌فعال هستند که از منابع متفاوتی تهیه می‌شوند. پلی‌ساکاریدها درشت مولکول‌های طبیعی هستند که معمولا از بیش از ده مونوساکارید تشکیل شده است که مونوساکاریدهای تشکیل‌دهنده آن از طریق پیوندهای گلیکوزیدی به صورت خطی یا منشعب در کنار هم قرار گرفته‌اند که با توجه به طول زنجیره و تعداد مونوساکاریدهای تشکیل‌دهنده دارای وزن مولکولی متفاوتی نیز هستند (Xu et al., 2017; Xie et al., 2016). پلی-ساکاریدها مانند سایر ماکرومولکول‌های ضروری بدن مثل پروتئین‌ها و پلی‌نوکلئوتیدها برای فعالیت‌های روزمره بدن بسیار ضروری بوده و نیز نقش بسیار مهمی در ارتباطات سلول-سلول، چسبندگی سلول و شناسایی مولکول‌های شاخص در سیستم ایمنی ایفا می‌کنند (Yang Dong et al., 2019;and Zhang, 2009). در سال‌های اخیر پلی-ساکاریدها از منابع طبیعی مختلفی از قبیل گیاهان، جلبک‌ها، حیوانات و قارچها مشتق شده‌اند و به دلیل برخی ویژگی‌های دارویی خود از قبیل خواص ضدالتهابی، ضداکسیدانی و ضدتوموری توجه بسیار زیادی را به‌خود معطوف کرده‌اند (Cho et al., Yu et al., 2018 2015;). ثابت شده است که آرابینوگالاکتان[1]، گالاکتومانان[2] و پلی-ساکاریدهای پکتیکی[3] مشتق شده از گیاهان عالی، بتاگلوکان‌ها[4]، گلیکوپروتئین‌های مشتق شده از قارچها پلی‌ساکاریدهای سولفاته مشتق شده از گیاهان دریایی دارای خواص زیست فعالی مناسب می باشند (Gilar et al., 2011; Yu et al., 2018). دسته‌ای از پلی-ساکاریدهای مشتق شده از منابع دریایی پلی‌ساکاریدهای سولفاته هستند. این دسته از پلی‌ساکاریدها یک شاخه گسترده از پلی-ساکاریدهای به‌دست آمده را به‌خود اختصاص می‌دهند. این ماکرومولکول‌ها به فراوانی در دیواره سلولی جلبک‌های دریایی یافت می‌شوند (Alboofetileh et al., 2019). این ماکرومولکول‌ها با توجه به منبعی که از آن استخراج می‌شوند خواص زیست فعالی و کارکردی متفاوتی نیز دارند و همچنین نام‌های متفاوت برای آن‌ها در نظر گرفته شده است. از خواص زیست فعالی که در این ترکیبات مورد توجه قرار گرفته است می‌توان به خواص ضدالتهابی، ضداکسیدانی و ضدتوموری اشاره کرد (Cho et al., 2015; Yu et al., 2018). با توجه به گرایش مصرف کننده‌ها به سمت ترکیبات زیست فعال دریایی به‌ویژه پلی‌ساکاریدهای سولفاته صنعت نیز به این سمت و سو گرایش پیدا کرده است (Pomin & Mulloy, 2018). از همین رو توجه به تولید و استخراج بیش از قبل این ترکیبات در زندگی بشر احساس می‌شود. در مقیاس صنعتی پلی‌ساکاریدهای سولفاته از پوست و استخوان خوک تهیه می‌شوند که محدودیت‌هایی در مصرف این محصولات در برخی کشورها وجود دارد‌که می‌توان به خطرات ناشی از انتقال آنفولانزای خوکی و همچنین حرام بودن گوشت خوک در برخی کشورهای اسلامی اشاره کرد (Arima et al., 2013). منابعی دیگری نیز برای تولید مشتقات متنوع پلی‌ساکاریدهای سولفاته از قبیل کندرتین سولفات[5] و درماتان سولفات[6] وجود دارد که یکی از این منابع تاج مرغ است که دارای نقاط ضعفی مثل هزینه بالای تولید می باشد (Jridi et al., 2018; Arima et al., 2013). با توجه به معایب و نقص‌هایی که در منابع مورد استفاده برای پلی‌ساکاریدهای سولفاته وجود دارد محققین و صنعت به‌دنبال یافتن یک منبع جایگزین مناسب و ارزان قیمت می‌باشند. صنعت شیلات با تولید ۱۶۷/۲ میلیون تن آبزیان در سال ۲۰۱۸، که سهم ایران ۹۴۷ هزار تن بوده است یک جایگزین بسیار مناسب برای تولید این ترکیبات است (FAO, 2018). در همین راستا باقی‌مانده‌های خام حاصل از فرآوری آبزیان که نزدیک به ۲۰ تا ۵۰ درصد وزن اولیه ماهی را شامل می شوند یکی از این منابعی است که امروزه مورد توجه محققین قرار گرفته است (Zamora-Sillero et al., 2018). این میزان ضایعات به یک مشکل زیست محیطی مهم بدل شده است، ولی می‌توان به عنوان یکی از اصلی‌ترین منابع مورد استفاده در تولید پلی‌ساکاریدهای سولفاته باشد. از همین رو هدف از مطالعه حاضر استخراج پلی-ساکاریدهای سولفاته از پوست ماهی قزل‌آلا و بررسی ترکیبات شیمیایی، خواص ضداکسیدانی و کارکردی آنها بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و آماده‌سازی

نمونه‌های پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از فروشگاهی در بازار ماهی فروشان شهرستان نور تهیه شد. سپس، نمونه‌ها پس از تهیه با نسبت ۱ به ۳ با یخ پوشیده شده و به دانشگاه منتقل شدند. سپس نمونه‌ها شسته شده و در ادامه چرخ شدند. در نهایت در بسته های پلاستیکی بسته‌بندی شده و تا زمان استفاده در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج پلی‌ساکاریدهای سولفاته

1 Arabinogalactan
2 Galactomannan
3 Pectic polysaccharides
4 β-glucans

5 Chondroitin sulfate
6 Dermatan sulfate

ابتدا ۱۰۰ گرم از نمونه‌های هموژن شده در ۵۰۰ میلی‌لیتر بافر هیدروکلریک اسید- پتاسیم کلراید ۵۰ میلی‌مولار pH معادل ۲ اضافه شد. سپس برای غیرفعال‌سازی آنزیم‌های داخلی ظرف حاوی نمونه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. در ادامه بعد از تنظیم درجه حرارت مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم آنزیم پپسین به مخلوط اضافه شده و مخلوط تهیه شده به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد. پس از طی این زمان به مخلوط اجازه داده شد تا دمای اتاق سرد شده، سپس سانتریفوژ شدند و در ادامه تحت خلا فیلتر شد. در ادامه برای استخراج پلی‌ساکاریدها به وسیله اتانول، ماده به‌دست آمده از عملکرد آنزیمی برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در سانتریفوژ در ۳۵۰۰ g سانتریفوژ شد و لایه رویی جمع‌آوری شده و در اتانول ۹۶ درصد به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و رسوب داده شد. بخش رسوب داده شده در آب مقطر ریخته شده و خشک‌کن انجمادی (FD-5003-BT) شد. لوله‌های فالکون پلی‌ساکاریدهای استخراج شده تا زمان استفاده بعدی در فریزر نگهداری شدند (Jridi et al., 2018).

آنالیزهای شیمیایی

جهت تعیین محتوای عصاره‌های پلی‌ساکاریدی آنالیزهای شیمیایی تعیین کربوهیدرات کل با روش فنول- اسید سولفوریک انجام شد (Dubois et al., 1956). برای تعیین سولفات از روش ژلاتین-کلریدباریوم استفاده شد (Loyd et al., 1960). مقدار پروتئین کل با روش Lowry تعیین شد (Lowry et al., 1951). تعیین مقدار یورونیک اسید با استفاده از هیدروکسی‌دی‌فنیل صورت گرفت (Bitter & Muir, 1962).

طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)

طیف FTIR پلی‌ساکاریدهای سولفاته استخراج شده با استفاده از دستگاه FTIR اسپکتروفتومتر (IRTracer-100، شیمادزو) در گستره ۴۰۰۰- ۴۰۰ cm^{-1} و با تفکیک‌پذیری ۴ cm^{-1} تعیین گردید (Jridi et al., 2018).

غیرفعال کردن رادیکال آزاد DPPH

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های آزاد پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل-هیدرازیل (DPPH) صورت پذیرفت (Guo et al., 2014). بدین منظور ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از پلی ساکاریدهای سولفاته به ۲ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۱۶ میلی مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده و به مدت یک دقیقه تکان داده شد. سپس ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری و جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر (LAMBDA 365) خوانده شد. از اسید آسکوربیک به‌عنوان استاندارد برای مقایسه استفاده شد. از قدرت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH نمونه‌ها طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$RSA= [1-((A\ sample- A\ blank)/ A\ control]\times 100 \qquad (1)$$

A sample: جذب نمونه بعد از زمان موردنظر (نمونه و محلول حاوی رادیکال‌های آزاد).

A control: جذب محلول حاوی رادیکال‌های آزاد بدون نمونه.

A sample blank: جذب نمونه بعد از زمان موردنظر (نمونه بدون محلول حاوی رادیکال‌های آزاد).

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS[1]

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS پلی‌ساکارید استخراج شده با روش Borazjani و همکاران (۲۰۱۷) مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که در ابتدا برای تهیه محلول رادیکال پایدار ABTS ابتدا یک محلول ۷ مولار آن در آب مقطر تهیه شد. در ادامه به محلول پتاسیم پر سولفات ۲/۴۵ میلی‌مولار اضافه شده و در مکانی تاریک به مدت ۱۶ ساعت برای تشکیل کاتیون‌های سبز-آبی نگهداری شد. سپس محلول نهایی تا حدی رقیق شد که مقدار جذب آن به ۰/۷ در ۷۳۴ نانومتر برسد. در ادمه ۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف پلی‌ساکارید و اسید آسکوربیک (۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۷ میلی‌مولار تهیه شده ABTS افزوده شد (Borazjani et al., 2017). به‌منظور کنترل واکنش از ترکیب ABTS و اتانول استفاده شد. محلول حاصل در میکروپلیت نگهداری شده و در انتها جذب آن در طول موج ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. توانایی مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS بر طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$ABTS\ scavenging\ activity\ (\%)= (Ac- As)/ Ac\times 100 \qquad (2)$$

که Ac جذب نمونه کنترل (۰/۵ میلی‌لیتر اتانول همراه با ۱/۵ میلی‌لیترمحلول ABTS و As به‌عنوان جذب نمونه می‌باشد.

قدرت شلاته‌کنندگی یون‌های فروزین

برای اندازه‌گیری قدرت کاهندگی یون‌های فروزین برای نمونه پلی‌ساکاریدهای سولفاته از روش Chew و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH= ۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر فری سیانات پتاسیم ۱٪ با ۱ میلی‌لیتر بر

1 2,2-azinobis 3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid

گرم از نمونه مخلوط شد. این محلول در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد. سپس به این محلول ۲/۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرو استیک ۱۰٪ اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه در rpm ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد. در ادامه ۲/۵ میلی‌لیتر آب و ۰/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن ($FeCl_3$) ۰/۱٪ به ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط اضافه شد. سپس این محلول در دمای ثابتی به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شده تا در آن ایجاد رنگ صورت بپذیرد. بعد از این مدت جذب نمونه‌ها در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول اسید تانیک در غلظت‌های صفر تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. قدرت شلاته‌کنندگی آهن بر حسب میلی‌گرم اسید تانیک بر گرم پودر باقی‌مانده‌های حاصل از فراوری خشک شده بیان شد. از اسید آسکوربیک به‌عنوان استاندارد برای مقایسه استفاده شد (Chew et al., 2008).

Metal chelating activity (%)= [(ODC+ODB−ODS)/ODC] ×100 (۳)

که در فرمول بالا ODC، ODB و ODS به‌ترتیب جذب نمونه شاهد، جذب نمونه بلانک (کنترل مثبت که حاوی محلول رادیکال بوده و به‌جای پلی‌ساکارید آب مقطر استفاده شد) و جذب نمونه واکنش است.

خواص امولسیفایری

خواص امولسیفایری پلی‌ساکاریدهای سولفاته استخراج شده از طریق توانایی آنها برای تثبیت چند ترکیب آبگریز مورد بررسی قرار گرفت. محلول پلی‌ساکارید با نسب وزنی- حجمی ۱، ۵ و ۱۰٪ با هرکدام از ترکیبات آبگریز ترکیب شده و با همزن مغناطیسی مدل MS200 با سرعت rpm ۳۰۰ به مدت ۲ دقیقه کاملا هم زده شد. پس از ۲۴ ساعت شاخص امولسیفایری (E24) از طریق فرمول زیر محاسبه شد.

E24= (He/ Ht)× 100 (۴)

که در فرمول بالا He بیانگر ارتفاع امولیسیون و Ht بیانگر ارتفاع کل محلول می‌باشد. ترکیبات آبگریز مورد استفاده شامل روغن سویا و روغن آفتابگردان بودند (Gomaa et al., 2018).

خصوصیات کف‌کنندگی

مقدار ۱۵۰ میلی لیتر از محلول‌های ۱، ۵ و ۱۰٪ وزنی- حجمی پلی‌ساکاریدهای سولفاته با استفاده از هموژنایزر پروب‌دار مدل KTG و با سرعت ۹۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه هموژن شد. خواص کف‌کنندگی آن‌ها بعداز ۳۰ ثانیه با فرمول زیر محاسبه شد (Sciarini et al., 2009).

FC= (i fv/ t sv)× 100 (۵)

در اینجا i fv حجم اولیه کف و t sv حجم نهایی سوسپانسیون بود.

پایداری کف پس از ۳۰ دقیقه با فرمول زیر محاسبه شد.

FS= (f fv / t sv)× 100 (۶)

که در فرمول بالا f fv حجم نهایی کف پس از ۳۰ دقیقه بوده و t sv حجم اولیه کف می‌باشد.

تجزیه تحلیل آماری داده‌ها

برای طراحی آزمایشات از طرح کاملا تصادفی استفاده شد. تجزیه تحلیل داده ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۲ انجام شد. برای مقایسه کلی پارامترها همچنین از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن (در سطح ۵ درصد) سپس برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۶ استفاده شد.

نتایج و بحث

آنالیز شیمیایی پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده

نتایج آنالیز شیمیایی پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلا در جدول ۱ نمایش داده شده است. بازده استخراج ۰/۰۲ ±۳/۲۳٪ بود. مقدار بازده پلی‌ساکارید استخراج شده از صدف *Solen marginatus* در مطالعه Souissi و همکاران (۲۰۱۹) ۳/۵۳٪ بود (Souissi et al., 2019). در مطالعه Jridi و همکاران (۲۰۱۹) که به استخراج پلی‌ساکاریدهای سولفاته از قسمت پوست و ماهیچه ماهی مرکب پرداختند گزارش کردند که درصد استخراج از قسمت پوست و عضله به‌ترتیب ۱/۶ و ۸/۶٪ بود (Jridi et al., 2019). مقدار کربوهیدارت و پروتئین نمونه بدست آمده نزدیک به مقادیر به‌دست آمده در مطالعات Jridi و همکاران (۲۰۱۹) و Souissi و همکاران (۲۰۱۹) بود (Souissi et al., 2019Jridi et al., 2019;). همین روال نیز برای مقادیر سولفات و یورونیک اسید مشاهده شد. محققان بیان کردند که عامل اصلی اختلاف در مقدار پلی‌ساکاریدهای سولفاته از منابع مختلف نوع منبعی است که برای استخراج مورد استفاده قرار می‌گیرد. این منابع علاوه‌بر درصد پلی‌ساکارید سولفاته می‌توانند در سایر اجزای شیمیایی نیز متفاوت باشند. در مطالعه‌ای دیگر این موضوع مشخص شد که علاوه بر تاثیر کلیدی نوع منبع مورد استفاده برای استخراج پلی‌ساکاریدهای سولفاته، روش استخراج و خالص سازی این ترکیبات بر خواص شیمیایی و ترکیبات شیمیایی پلی-ساکارید استخراج شده تاثیر دارد (Alboofetileh et al., 2019).

جدول ۱- آنالیز شیمیایی پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده

Table 1- Chemical analysis of extracted sulfated polysaccharide

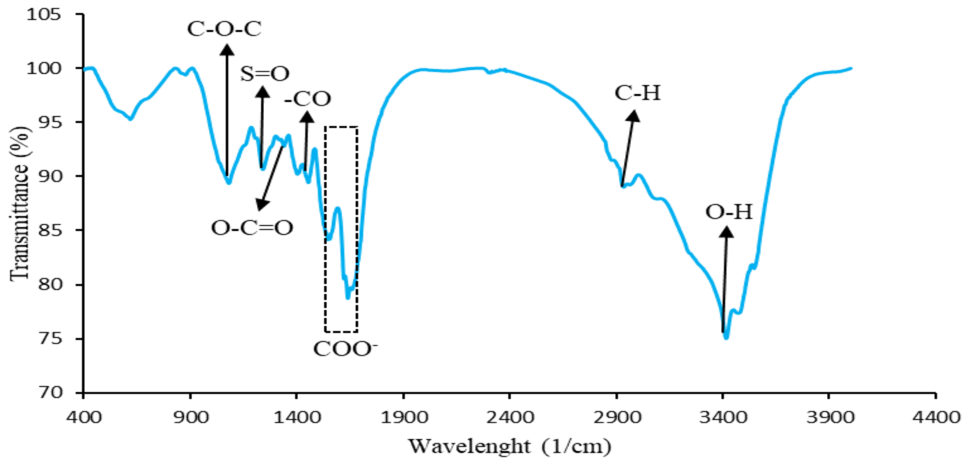
بازده استخراج (٪) Extraction yield (%)	پروتئین (٪) Protein (%)	کربوهیدارت (٪) Carbohydrate (%)	سولفات (٪) Sulfate (%)	یورونیک اسید (٪) Uronic acid (%)
3.23± 0.02	7.78± 0.43	57.03± 2.56	6.54± 0.77	3.86± 0.42

تعداد تکرار آزمایشات ۳ بار بود. اعداد بر اساس میانگین ± انحراف از معیار بیان شده‌اند.

The experiments were repeated 3 times. The date are expressed as mean ± standard deviation.

نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) پلی‌ساکارید استخراج شده

نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز پلی‌ساکاریدهای سولفاته به‌دست آمده در محدوده $400 cm^{-1}$ تا ۴۰۰۰ در شکل ۱ نمایش داده شده‌اند. همانطوری که از شکل‌ها پیداست تفاوت معنی‌داری در جابه‌جایی پیک‌ها مشاهده نشده است و مشابه هستند. با این حال پیک پهن در ناحیه بین ۳۳۵۰ تا $3450 cm^{-1}$ مربوط به گروه OH– و باند ضعیف ناحیه $2900 cm^{-1}$ مربوط به گروه عاملی C-H می‌باشد (Souissi et al., 2019; Alboofetileh et al., 2018). باندهای کششی ناحیه ۱۴۸۰ تا $1640 cm^{-1}$ مربوط به گروه عاملی COO^- است (Souissi et al., 2019). باندهای خمشی سولفات S=O در ناحیه $1245 cm^{-1}$ ظهور پیدا کرد (Jridi et al., 2019). پیک‌های ظاهر شده در ناحیه ۱۳۸۵ و $1450 cm^{-1}$ به‌ترتیب مربوط به باند کششی O-C=O و ارتعاش کششی CO– در گروه COOH است (Jridi et al., 2019). باند ناحیه $1077 cm^{-1}$ مربوط به باند ارتعاشی C-O-C است (Shen et al., 2019).



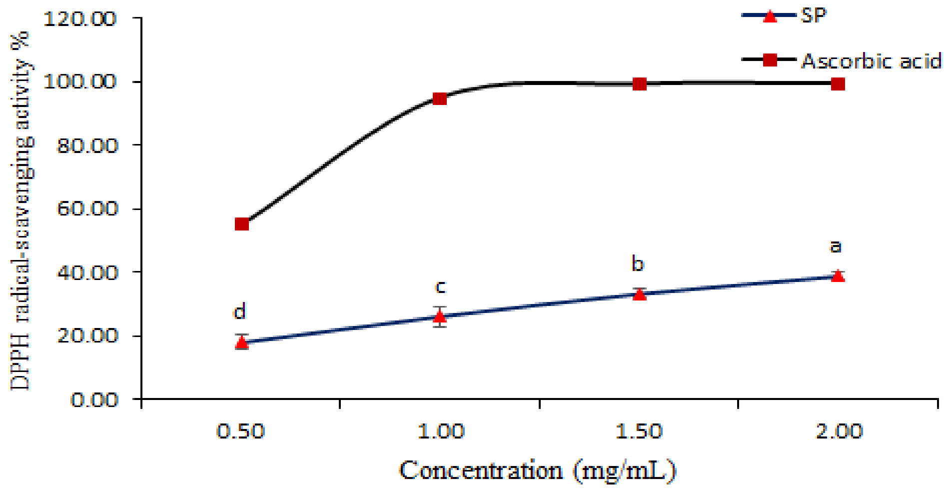
شکل ۱- طیف FTIR پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

Fig. 1. FTIR spectrum of sulfated polysaccharide extracted from rainbow trout skin

غیرفعال کردن رادیکال آزاد (DPPH) پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

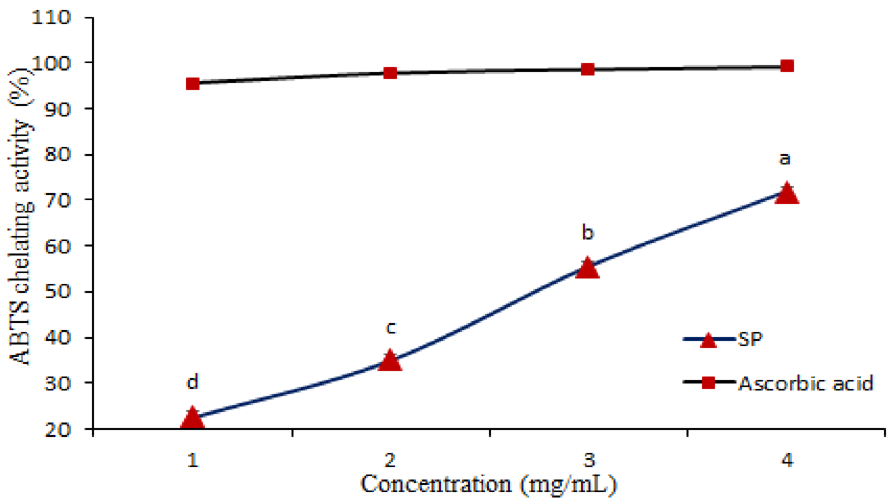
همانطور که از شکل ۲ پیداست یک روند افزایشی و معنی‌دار در غلظت‌های مختلف مورد استفاده برای این آزمایش مشاهده شد ($p<0.05$) که بالاترین قدرت خنثی کنندگی پلی‌ساکاریدهای سولفاته به‌دست آمده در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. تست رادیکال DPPH یکی از تست‌های آنتی‌اکسیدانی معمولی است که بر اساس رادیکال آزاد پایدار است که در این تست حداکثر جذب در ۵۱۷ نانومتر نشان داده خواهد شد (Jridi et al., Rjeibi et al., 2019; 2019). در این تست، ترکیبات زیست‌فعال مانند پلی‌ساکارید، پروتئین و لیپید توسط هیدروژن اهداءکننده می‌توانند با اهدای الکترون به رادیکال آزاد DPPH ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خود را نشان دهند (Jridi et al., 2019; Souissi et al., 2019). نتایج مطالعه حاضر هم راستا با نتایج به‌دست آمده در مطالعه Souissi و همکاران (۲۰۱۹) بود، که در آن مطالعه محققین به استخراج و بررسی خواص مختلف پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده صدف (*Solen marginatus*) پرداختند (Souissi et al., 2019). نتایج آنها نشان داد که پس از غلظت ۲ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر روند افزایشی خاصیت

ضداکسیدانی بر علیه رادیکال‌های آزاد DPPH متوقف شده و یک روند ثابت شکل گرفت که با افزایش بیشتر غلظت درصد خنثی کنندگی به بالاتر از ۶۰٪ نرسید. Jridi و همکاران (۲۰۱۹) به استخراج و بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی پلی‌ساکاریدهای سولفاته از پوست و گوشت ماهی مرکب پرداختند که نتایج تست DPPH آنها همسو با نتایج حاضر بود (Jridi et al., 2019). جالب توجه است که محققین ویژگی مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH پلی‌ساکارید سولفاته را با محتوای سولفات، نسبت مولی محتوای سولفات به فوکوز و وزن مولکولی مرتبط دانسته‌اند (Alboofetileh et al., 2019; Bhuyar et al., 2020).



شکل ۲- نمودارآنالیز خنثی کنندگی رادیکال آزاد (DPPH) پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

Fig. 2. Analysis diagram of DPPH radical-scavenging activity of sulfated polysaccharide extracted from the skin of rainbow trout



شکل ۳- نمودارآنالیز تست ABTS پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

Fig. 3. Analysis diagram of %ABTS Chelating Activity of sulfated polysaccharide extracted from the skin of rainbow trout

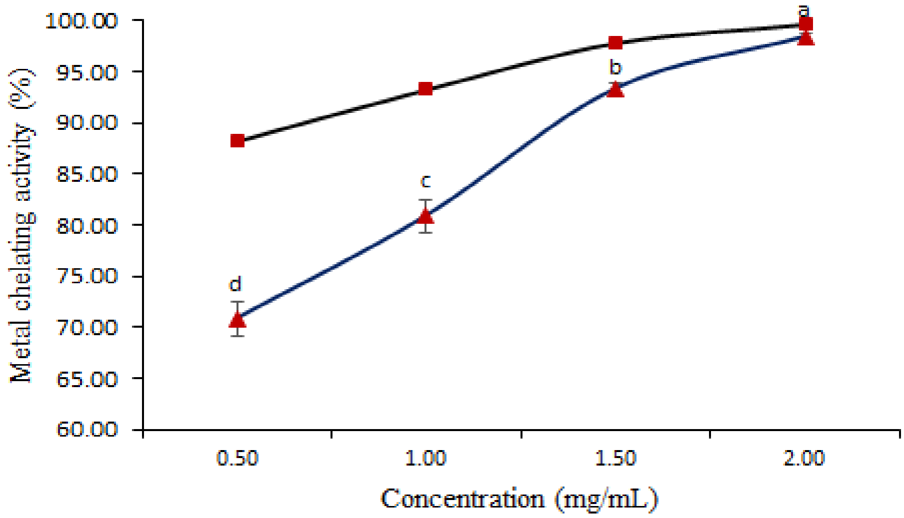
شلاته‌کنندگی رادیکال ABTS پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

رادیکال ABTS یک رادیکال پایدار مصنوعی بوده که به دلیل حساسیت بالا برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف بکار می‌رود. این روش بر مبنای احیاء رادیکال کاتیون ($ABTS^{•+}$) بوده که جذب بالایی در ۷۳۴ نانومتر دارد، همچنین این روش کاربرد گسترده‌ای برای ترکیبات چربی دوست و آبدوست دارد (Li & Wang, 2016). همانطور که از شکل ۳ پیداست یک روند افزایشی وابسته به غلظت قابل مشاهده است که بالاترین درصد شلاته‌کنندگی رادیکال ABTS در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آب مقطر دیده شد ($p<0.05$). بر اساس مطالعات گذشته مشخص شده است که فعالیت شلاته‌کنندگی رادیکال ABTS پلی‌ساکاریدها می‌تواند به عوامل

مختلفی از قبیل وزن مولکولی (Li & Wang, 2016)، مقدار سولفات (Khan et al., 2019) مرتبط باشد. در همین راستا نیز به این موضوع اشاره شده است که روش‌های استخراج این ترکیبات بر خواص شلاته کنندگی رادیکال ABTS نمونه‌ها تاثیر بسیار مهمی دارد که این تاثیر را به حضور مقادیر مختلف اجزای شیمیایی موجود در پلی‌ساکارید و میزان تخلیص این ترکیبات نسبت داده‌اند (Grina et al., 2020).

فعالیت شلاته‌کنندگی یون‌های فروزین پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

ارزیابی قدرت احیاکنندگی، توانایی الکترون‌دهندگی یک ترکیب را نشان می‌دهد. در این ارزیابی، اغلب میزان احیاکنندگی آهن III به عنوان نشانگر این توانایی استفاده می‌شود. اگر ترکیبی این ویژگی را داشته باشد، باعث کاهش ترکیبات حد واسطه اکسید شده طی مراحل پراکسیداسیون لیپید می‌شود. به این ترتیب باعث شکستن زنجیره این واکنش شده و می‌تواند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان اولیه و ثانویه عمل کند، همچنین سنجش قدرت احیاکنندگی با استفاده از احیا آهن (III) به آهن (II) انجام می‌شود (Pan et al., 2019).



شکل ٤- نمودارفعالیت شلاته‌کنندگی یون‌های آهن پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان
Fig. 4. Diagram of metal chelating activity of sulfated polysaccharide extracted from the skin of rainbow trout.

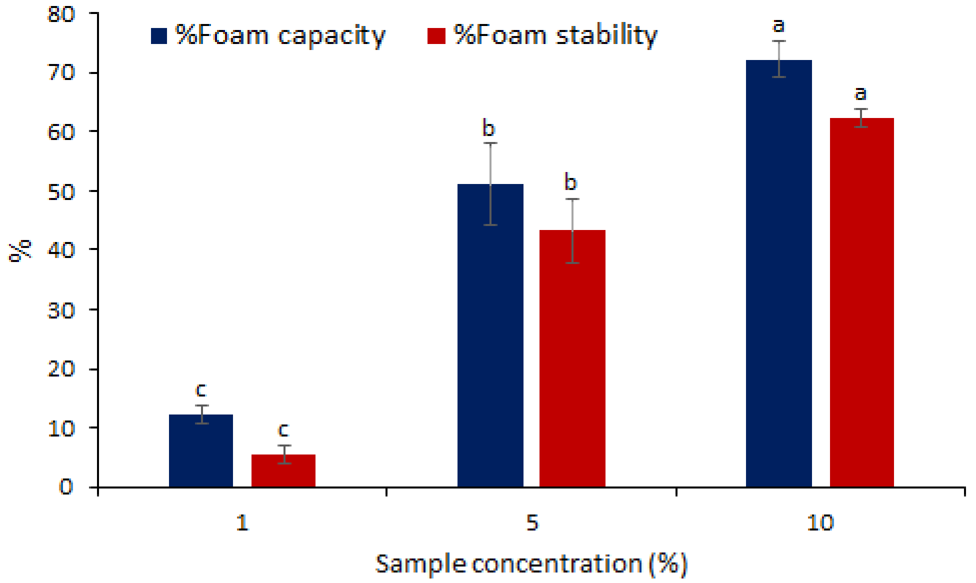
نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که قدرت احیاءکنندگی یون‌های فروزین وابسته به دوز استفاده شده برای پلی‌ساکاریدهای سولفاته بود به‌صورتی که با افزایش غلظت نمونه‌ها مقدار این خواص افزایش پیدا کرد و بالاترین مقدار آن در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی لیتر آب مقطر بود و همچنین اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده شد ($p<0.05$). این نتایج هم‌راستا و همسو با نتایج به‌دست آمده در مطالعات Hamzaoui و همکاران (۲۰۲۰) بود که در آن مطالعه محققین به بررسی خواص ضداکسیدانی و کارکردی پلی‌ساکاریدهای سولفاته استخراج شده از گیاه آبزی *Chaetomorpha linum* پرداختند. بر اساس مطالعات گسترده‌ای که به بررسی خواص احیاءکنندگی پلی‌ساکاریدهای سولفاته انجام شده این موضوع بخوبی مشخص شده است که خواص احیاءکنندگی این ترکیبات با افزایش وزن مولکولی افزایش می‌یابد

(Soua et al., Hamzaoui et al., 2020;Qi et al., 2005 ; 2020). در مطالعه‌ای که به بررسی خواص ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدهای سولفاته استخراج شده از پوست و گوشت ماهی مرکب پرداخته شده بود محققین اذعان کردند که محتوای سولفات موجود در پلی‌ساکارید تاثیر بسیار مهمی در احیاءکنندگی یون‌های آن دارد (Jridi et al., 2019). علاوه‌بر مقدار سولفات پلی‌ساکاریدهای استخراج شده مشخص شده که حضور گالاکتورونیک اسید نقش مهمی در خواص ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدها دارد (Chang et al., 2010).

فعالیت کف‌کنندگی و پایداری کف پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

تشکیل کف و پایداری آن در بسیاری از صنایع نظیر صنایع غذایی و شیمیایی بسیار حائز اهمیت است به همین دلیل در صنعت به دنبال یافتن ترکیبات طبیعی با این خاصیت هستند. به‌طور کلی تعریف کف عبارت است از انتشار فاز پراکنده (معمولا هوا) به یک فاز پیوسته که ویژگی‌های کف تشکیل شده در مواد غذایی توسط پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها می تواند نقش مهمی در تکنولوژی مواد غذایی به‌عنوان عوامل کف‌زا ایجاد کنند (Li et al., 2019 ; Chen et al., 2019).

پلی‌ساکاریدها از اجزایی هستند که کاربردهای گسترده‌ای به‌عنوان عوامل کف‌زا در صنایع مختلف دارا هستند (Trigui et al., 2018). همانطوریکه از شکل ۵ پیداست یک روند افزایشی با افزایش غلظت پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده بدست آمده است که به تناسب آن نیز پایداری کف ایجاد شده روند افزایشی در ایجاد کف نشان داده است ($p<0.05$). غلظت ۱۰٪ پلی‌ساکارید سولفاته استفاده شده بالاترین درصد کف کنندگی (۷۲/۲۲٪) و پایداری کف (۶۲/۲۲٪) را از خود نشان داده‌است. دلایل این نتایج را می‌توان به بهبود ویسکوزیته محلول‌های ایجاد شده توسط پلی‌ساکاریدهای سولفاته نسبت داد، در واقع می‌توان این استدلال را بیان کرد که حضور پلی ساکاریدها در غلظت‌های بالاتر باعث پایداری ارتباط بین سطح کف تولید شده و محلول زیرآن شده است که این نتایج همراستا و هم‌سو با گزارشات Romdhane و همکاران (۲۰۱۷) و Soua و همکاران (۲۰۲۰) است (Romdhane et al., 2017; Soua et al., 2020;). در مطالعه Zhu و همکاران (۲۰۱۷) مشخص شد که بالاترین ویژگی کف‌کنندگی و پایداری کف در پلی‌ساکارید استخراج شده به‌ترتیب ۹۲٪ و ۸۰٪ بود که اندکی بالاتر از نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر بود، همچنین بیان کردند که بالا بودن این ویژگی‌ها به بالا بودن محتوای پروتئین پلی‌ساکاریدها نسبت دادند (Zhu et al., 2017). در مطالعه Ghribi و همکاران (۲۰۱۵) بالاترین خواص کف کنندگی و پایداری کف پلی‌ساکارید استخراج شده از chickpea به ترتیب ۹۱/۱۶٪ و ۷۹/۸۲٪ بود. با توجه به ویژگی خوب کف‌کنندگی و پایداری کف ایجاد شده توسط پلی‌ساکاریدهای استخراج شده می‌توان پیشنهاد داد که این پلی‌ساکاریدها قابلیت کاربرد صنعتی را در صنایع غذایی دارا هستند (Ghribi et al., 2015).

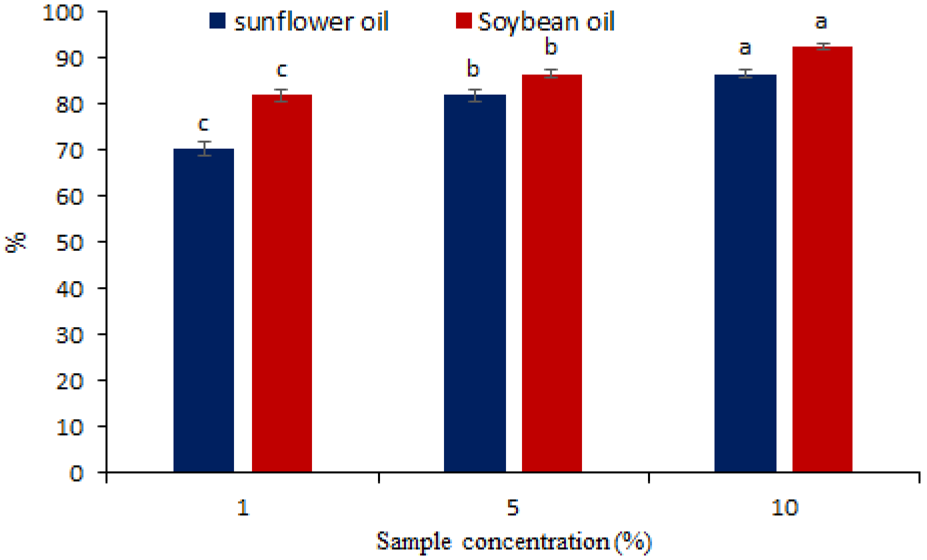


شکل ۵- نمودارفعالیت کف‌کنندگی و پایداری کف پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان
Fig. 5. Chart of foaming activity and foam stability of sulfated polysaccharide extracted from the skin of rainbow trout

فعالیت امولسیون کنندگی پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

امولسیون‌ها سامانه‌های متشکل از دو مایع (معمولا آب و روغن) غیرقابل امتزاج هستند که از نظر ترمودینامیکی ناپایدار می‌باشند (Wang et al., 2019). این سامانه‌ها اساس بسیاری از محصولات غذایی را تشکیل می‌دهند. مولکول‌های زیستی نظیر پروتئین‌ها و برخی از پلی‌ساکاریدها به‌عنوان امولسیون کننده و پایدار کننده‌های طبیعی برای پایداری سامانه‌های امولسیون مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Saravana et al., 2016). در مطالعه حاضر از دو نوع روغن آفتابگردان و روغن سویا به‌منظور بررسی خواص امولسیون‌کنندگی پلی‌ساکارید سولفاته به‌دست آمده در غلظت‌های مختلف استفاده شد. در تمام غلظت‌های استفاده شده علی‌رغم اختلاف بسیار کم اما خواص امولسیون‌کنندگی برای روغن سویا بالاتر بود ($p<0.05$). Leroux و همکاران (۲۰۰۳) که به بررسی خواص امولسیون‌کنندگی پکتین پرداخته بود بیان کردند که توانایی امولسیون‌کنندگی پلی ساکاریدها به‌دلیل حضور مقادیر بسیار ناچیز پروتئین است که به‌طور کووالانی به ساختار پلی‌ساکاریدها متصل شده است (Leroux et al., 2003). که این امر با توجه به حضور ۷/۷۸٪ پروتئین در پلی‌ساکارید

سولفاته استخراج شده قابل توجیه است. روند افزایشی ظرفیت امولسیون‌کنندگی که متناسب با افزایش غلظت نمونه‌ها مشاهده شد مشابه نتایج به‌دست آمده با مطالعه Zhu و همکاران (۲۰۱۷) بود که دلیل این امر وجود مقادیر زیادی پلی ساکارید است که می تواند سطح مشترک روغن-آب را کاملاً اشباع کند و در نتیجه باعث پوشش سطح بالاتر می شود (Zhu et al., 2017).



شکل ٦- نمودارفعالیت امولیسون‌کنندگی پلی‌ساکارید سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

Fig. 6. Chart of emulsifying activity of sulfated polysaccharide extracted from the skin of rainbow trout

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر پلی‌ساکارید سولفاته از قسمت پوست باقی مانده‌های خام حاصل از فرآوری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با محتوای بالایی از کربوهیدرات و سولفات به‌وسیله رسوب‌دهی با اتانول استخراج شد. پلی‌ساکاریدهای سولفاته استخراج شده پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان دادند و می‌توانند از انتشار واکنش های زنجیره ای رادیکال‌های آزاد از طریق اهدای هیدروژن (الکترون) جلوگیری کنند. پلی‌ساکارید سولفاته خواص کف‌کنندگی و امولیسیون‌کنندگی بسیار خوبی را نیز از خود نشان دادند. به‌طور کلی می‌توان اذعان کرد که خواص مختلفی که در پلی‌ساکاریدهای سولفاته استخراج شده مشاهده می‌شود به حضور مقادیر مختلف کربوهیدارت، سولفات، یورونیک اسید و پروتئین مربوط می‌شود. با توجه به نتایج ارائه شده در قسمت‌های مختلف می‌توان این ادعا را کرد که پلی‌ساکاریدهای سولفاته استخراج شده از پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پتانسیل کاربرد به‌عنوان مکمل‌های تغذیه‌ای ضداکسیدانی و عوامل امولیسیون‌ساز و کف‌کننده در صنایع غذایی را دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت‌های مالی و معنوی صندوق حمایت از پژوهشگران کشور (شماره طرح ۹۹۰۰۳۹۳۲) و دانشگاه تربیت مدرس (IG-39804) کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1. Alboofetileh, M., Rezaei, M., & Tabarsa, M. (2018). Enzyme-assisted extraction of *Nizamuddinia zanardinii* for the recovery of sulfated polysaccharides with anticancer and immune-enhancing activities. *Journal of Applied Phycology*. https://doi.org/10.1007/s10811-018-1651-7
2. Alboofetileh, M., Rezaei, M., Tabarsa, M., & You, S. (2019). Bioactivities of *Nizamuddinia zanardinii* sulfated polysaccharides extracted by enzyme, ultrasound and enzyme-ultrasound methods. *Journal of Food Science and Technology*. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03584-1
3. Arima, K., Fujita, H., Toita, R., Imazu-Okada, A., Tsutsumishita-Nakai, N., Takeda, N., Nakao, Y., Wang, H., Kawano, M., Matsushita, K., Tanaka, H., Morimoto, S., Nakamura, A., Kitagaki, M., Hieda, Y., Hatto, R., Watanabe, A., Yumura, T., Okuhara, T., … Tamura, J. I. (2013). Amounts and compositional analysis of

glycosaminoglycans in the tissue of fish. *Carbohydrate Research*, 366, 25–32. https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.11.010

4. Bitter, T., & Muir, H. M. (1962). A modified uronic acid carbazole reaction. *In Analytical Biochemistry* (Vol. 4, Issue 4, pp. 330–334). https://doi.org/10.1016/0003-2697(62)90095-7
5. Borazjani, N. J., Tabarsa, M., You, S. G., & Rezaei, M. (2017). Effects of extraction methods on molecular characteristics, antioxidant properties and immunomodulation of alginates from *Sargassum angustifolium*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 703–711. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.128
6. Chang, S. C., Hsu, B. Y., & Chen, B. H. (2010). Structural characterization of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* and evaluation of antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47(4), 445–453. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.06.010
7. Chen, G., Fang, C., Chen, X., Wang, Z., Liu, M., & Kan, J. (2019). High-pressure ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from Mentha haplocalyx: Structure, functional and biological activities. Industrial Crops and Products, 130(October 2018), 273–284. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.086
8. Chew, K. K., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Khoo, M. Z., Wan Aida, W. M., & Ho, C. W. (2011). Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts. *International Food Research Journal*, 18(2), 571–578.
9. Cho, C. W., Han, C. ji, Rhee, Y. K., Lee, Y. C., Shin, K. S., Shin, J. S., Lee, K. T., & Hong, H. Do. (2015). Cheonggukjang polysaccharides enhance immune activities and prevent cyclophosphamide-induced immunosuppression. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 519–525. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.010
10. Dong, X., Duan, X., Sun, Z., Zhang, X., Li, C., Yang, S., Ren, B., Zheng, S., & Dionysiou, D. D. (2019). Structural characterization and antioxidant activities of a water soluble polysaccharide isolated from *Glycyrrhiza glabra*. "Applied Catalysis B, Environmental," 118214. https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.118214
11. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. https://doi.org/10.1021/ac60111a017
12. FAO (2018), Yearbook of Fishery Statistics, Statistics and Information Service, FAO Fisheries and Aquaculture Department. Viale delle Terme di Caracalla 00153, *Rome: Food and Aquaculture Organization of the United Nations*. http://www.fao.org/fishery/statistics/en .
13. Ghribi, A. M., Sila, A., Gafsi, I. M., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H., ... & Besbes, S. (2015). Structural, functional, and ACE inhibitory properties of water-soluble polysaccharides from chickpea flours. *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 276-282. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.01.037
14. Gilar, M., Yu, Y. Q., Ahn, J., Xie, H., Han, H., Ying, W., & Qian, X. (2011). Characterization of glycoprotein digests with hydrophilic interaction chromatography and mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 417(1), 80–88. https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.05.028
15. Gomaa, M., Hifney, A. F., Fawzy, M. A., & Abdel-Gawad, K. M. (2018). Use of seaweed and filamentous fungus derived polysaccharides in the development of alginate-chitosan edible films containing fucoidan: Study of moisture sorption, polyphenol release and antioxidant properties. *In Food Hydrocolloids* (Vol. 82). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.056
16. Grina, F., Ullah, Z., Kaplaner, E., Moujahid, A., Eddoha, R., Nasser, B., Terzioğlu, P., Yilmaz, M. A., Ertaş, A., Öztürk, M., & Essamadi, A. (2020). In vitro enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phytochemical fingerprints of five Moroccan seaweeds. *South African Journal of Botany*, 128, 152–160. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.021
17. Guo, L., Zhu, W., Xu, F., Liu, M., Xie, Y., & Zhang, J. (2014). Optimized ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from Cyclina sinensis and evaluation of antioxidant activities in vitro. CYTA- *Journal of Food*, 12(1), 32–39. https://doi.org/10.1080/19476337.2013.785982
18. Hamzaoui, A., Ghariani, M., Sellem, I., Hamdi, M., Feki, A., Jaballi, I., Nasri, M., & Amara, I. Ben. (2020). Extraction, characterization and biological properties of polysaccharide derived from green seaweed "Chaetomorpha linum" and its potential application in Tunisian beef sausages. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 1156–1168. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.009
19. Joana Gil-Chávez, G., Villa, J. A., Fernando Ayala-Zavala, J., Basilio Heredia, J., Sepulveda, D., Yahia, E. M., & González-Aguilar, G. A. (2013). Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(1), 5–23. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12005
20. Jridi, M., Mezhoudi, M., Abdelhedi, O., Boughriba, S., Elfalleh, W., Souissi, N., Nasri, R., & Nasri, M. (2018). Bioactive potential and structural characterization of sulfated polysaccharides from Bullet tuna (*Auxis Rochei*) by-products. *Carbohydrate Polymers*, 194(April), 319–327. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.038

21. Jridi, M., Nasri, R., Marzougui, Z., Abdelhedi, O., Hamdi, M., & Nasri, M. (2019). Characterization and assessment of antioxidant and antibacterial activities of sulfated polysaccharides extracted from cuttlefish skin and muscle. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 1221–1228. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.170
22. Khan, B. M., Qiu, H. M., Wang, X. F., Liu, Z. Y., Zhang, J. Y., Guo, Y. J., Chen, W. Z., Liu, Y., & Cheong, K. L. (2019). Physicochemical characterization of *Gracilaria chouae* sulfated polysaccharides and their antioxidant potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 255–261. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.055
23. Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V., & Mazoyer, J. (2003). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, 17(4), 455–462. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00027-4
24. Li, H., Tao, Y., Zhao, P., Zhi, D., Gao, X., Zhao, X., & Li, M. (2019). Effect of ultrasound-assisted extraction on physicochemical properties and TLR2-affinity binding of the polysaccharides from *Pholiota nameko*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 1020–1027. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.177
25. Li, X., & Wang, L. (2016). Effect of extraction method on structure and antioxidant activity of Hohenbuehelia serotina polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 83, 270–276. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.060
26. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. https://doi.org/10.1016/0304-3894(92)87011-4
27. Loyd, A. G., Dogson, K. S., Price, R. G., & Rose, F. A. (1960). Polysaccharide Sulphates. *Biochem Biophys Acta*, 46(2961).
28. Odeleye, T., White, W. L., & Lu, J. (2019). Extraction techniques and potential health benefits of bioactive compounds from marine molluscs: a review. *Food & Function*. https://doi.org/10.1039/c9fo00172g
29. P. Bhuyar, M.H. Rahim, S. Sundararaju, G.P. Maniam, N. G. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of red seaweed; *Kappaphycus alvarezii* against pathogenic bacteria. Global *Journal of Environmental Science and Management*, 5(1), 47–58. https://doi.org/10.22034/gjesm.2020.01.0
30. Pan, X. Y., Wang, Y. M., Li, L., Chi, C. F., & Wang, B. (2019). Four antioxidant peptides from protein hydrolysate of red stingray (*dasyatis akajei*) cartilages: Isolation, identification, and in vitro activity evaluation. *Marine Drugs*, 17(5). https://doi.org/10.3390/md17050263
31. Pomin, V. H., & Mulloy, B. (2018). Glycosaminoglycans and proteoglycans. Pharmaceuticals, 11(1), 1–9. https://doi.org/10.3390/ph11010027
32. Qi, H., Zhao, T., Zhang, Q., Li, Z., Zhao, Z., & Xing, R. (2005). Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa Kjellm* (Chlorophyta). *Journal of Applied Phycology*, 17(6), 527–534. https://doi.org/10.1007/s10811-005-9003-9
33. Rjeibi, I., Hentati, F., Feriani, A., Hfaiedh, N., Delattre, C., Michaud, P., & Pierre, G. (2019). Novel antioxidant, anti-α-amylase, anti-inflammatory and antinociceptive water-soluble polysaccharides from the aerial part of *Nitraria retusa*. *Foods*, 9(1), 28. https://doi.org/10.3390/foods9010028
34. Romdhane, M. Ben, Haddar, A., Ghazala, I., Jeddou, K. Ben, Helbert, C. B., & Ellouz-Chaabouni, S. (2017). Optimization of polysaccharides extraction from watermelon rinds: Structure, functional and biological activities. *Food Chemistry*, 216, 355–364. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.056
35. Saravana, P. S., Cho, Y. J., Park, Y. B., Woo, H. C., & Chun, B. S. (2016). Structural, antioxidant, and emulsifying activities of fucoidan from *Saccharina japonica* using pressurized liquid extraction. *Carbohydrate Polymers*, 153, 518–525. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.014
36. Sciarini, L. S., Maldonado, F., Ribotta, P. D., Pérez, G. T., & León, A. E. (2009). Chemical composition and functional properties of *Gleditsia triacanthos* gum. *Food Hydrocolloids*, 23(2), 306–313. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.02.011
37. Shahidi, F. (2012). Nutraceuticals, functional foods and dietary supplements in health and disease. *Journal of Food and Drug Analysis*, 20(SUPPL.1), 226–230.
38. Shen, Q., Zhang, C., Jia, W., Qin, X., Cui, Z., & Mo, H. (2019). Co-production of chondroitin sulfate and peptide from lique fied chicken sternal cartilage by hot-pressure. *Carbohydrate Polymers*, 222(April), 115015. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115015
39. Soua, L., Koubaa, M., Barba, F. J., Fakhfakh, J., Ghamgui, H. K., & Chaabouni, S. E. (2020). Water-Soluble Polysaccharides from *Ephedra alata* Stems: Structural characterization, functional properties, and antioxidant activity. Molecules, 25(9), 1–18. https://doi.org/10.3390/molecules25092210
40. Souissi, N., Boughriba, S., Abdelhedi, O., Hamdi, M., Jridi, M., Li, S., & Nasri, M. (2019a). Extraction, structural characterization, and thermal and biomedical properties of sulfated polysaccharides from razor clam *Solen marginatus*. RSC Advances, 9(20), 11538–11551. https://doi.org/10.1039/C9RA00959K

41. Trigui, I., Yaich, H., Sila, A., Cheikh-Rouhou, S., Bougatef, A., Blecker, C., Attia, H., & Ayadi, M. A. (2018). Physicochemical properties of water-soluble polysaccharides from black cumin seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 937–946. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.202
42. Wang, Y., Ghosh, S., & Nickerson, M. T. (2019). Effect of pH on the formation of electrostatic complexes between lentil protein isolate and a range of anionic polysaccharides, and their resulting emulsifying properties. *Food Chemistry*, 298(June), 125023. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125023
43. Xie, J. H., Tang, W., Jin, M. L., Li, J. E., & Xie, M. Y. (2016). Recent advances in bioactive polysaccharides from *Lycium barbarum* L., *Zizyphus jujuba* Mill, Plantago spp., and Morus spp.: Structures and functionalities. *Food Hydrocolloids*, 60(235), 148–160. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.03.030
44. Xu, S. Y., Huang, X., & Cheong, K. L. (2017a). Recent advances in marine algae polysaccharides: Isolation, structure, and activities. *Marine Drugs*, 15(12), 1–16. https://doi.org/10.3390/md15120388
45. Yang, L., & Zhang, L. (2009). Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*, 76(3), 349–361. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.12.015
46. Ye, Q., Georges, N., & Selomulya, C. (2018). Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Science and Technology*, 78(January), 167–179. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.025
47. Yu, Y., Shen, M., Song, Q., & Xie, J. (2018). Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate Polymers*, 183(235), 91–101. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.009
48. Zamora-Sillero, J., Gharsallaoui, A., & Prentice, C. (2018). Peptides from Fish By-product Protein Hydrolysates and Its Functional Properties: an Overview. *Marine Biotechnology*, 20(2), 118–130. https://doi.org/10.1007/s10126-018-9799-3
49. Zhu, D. Y., Ma, Y. L., Wang, C. H., Wang, H., Ren, Y. F., Zhang, J. G., Thakur, K., & Wei, Z. J. (2017). Insights into physicochemical and functional properties of polysaccharides sequentially extracted from onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 1192–1201. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.164